Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Freiburg i. Br.

Pharmakologische Wertbestimmungs-Methode der neueren technischen Fieber-Mittel

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR

Erlangung der Medicinischen Doctorwürde

VORGELEGT DER

HOHEN MEDICINISCHEN FACULTÄT

DER

ALBERT-LUDWIGS-UNIVERSITÄT ZU FREIBURG I. Br.

VON

MARTIN KILIANI,

aus München.

Separatabdruck aus
ARCHIVES INTERNATIONALES DE PHARMACODYNAMIE ET DE THÉRAPIE
XX. Band.

BRUXELLES
H. LAMERTIN, ÉDITEUR,
20, RUE DU MARCHÉ-AU-BOIS.

PARIS
O. DOIN, ÉDITEUR,
8, PLACE DE L'ODÉON.

1910.

Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Freiburg i. Br.

Pharmakologische Wertbestimmungs-Methode der neueren technischen Fieber-Mittel

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR

Erlangung der Medicinischen Doctorwürde

VORGELEGT DER

HOHEN MEDICINISCHEN FACULTÄT

DER

ALBERT-LUDWIGS-UNIVERSITÄT ZU FREIBURG I. Br.

VON

ACAD. LUGD. BAT. BIBL.

MARTIN KILIANI,

aus München.

Separatabdruck aus
ARCHIVES INTERNATIONALES DE PHARMACODYNAMIE ET DE THÉRAPIE
XX. Band.

BRUXELLES
H. LAMERTIN, ÉDITEUR,
20, RUE DU MARCHÉ-AU-BOIS.

PARIS
O. DOIN, ÉDITEUR,
8, PLACE DE L'ODÉON.

1910.

Gedruckt mit Genehmigung der Medicinischen Facultät der Universität Freiburg im Breisgau.

Referent :
Prof. STRAUB.

Decan :
Geheimerat von KRIES.

Meinen lieben Eltern.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Freiburg i. Br.

Pharmakologische Wertbestimmung der technischen Fiebermittel

von

MARTIN KILIANI.

1. TEIL.

Erzeugung von künstlichem Fieber mit Bacterium coli.

Die chemische Technik beschäftigt sich noch fortwährend mit der Darstellung künstlicher Fieber-Mittel. Die Feststellung der voraussichtlichen Brauchbarkeit dieser Körper am Krankenbett ist ein kritischer Punkt im Werdegang eines solchen angehenden Medicamentes, und diese Feststellung obliegt dem pharmakologischen Experiment.

Die pharmakologische Analyse characterisiert die künstlichen Antipyretica als Narcotica im Allgemeinen, im Besondern als solche des Wärme-Centrums und ganz besonders des überreizten, fiebernden Wärme-Centrums — sie schläfern das erregte Centrum specifisch ein.

Die technischen Fieber-Mittel leiten sich mehr oder weniger alle von Collaps-Giften ab und wirken mit dem Rest ihrer « Erbsünde », den ihnen der darstellende Chemiker noch gelassen hat, antipyretisch. Sie werden deshalb im Princip alle auch die normale Temperatur herabsetzen, und man könnte daran denken, einfach an dieser Fähigkeit im Tier-Experiment ein voraussichtliches Antipyreticum zu prüfen. Indessen sind zur Herabsetzung der Temperatur an unseren handlichsten Versuchs-Tieren — Kaninchen, Katzen — schon so grosse Dosen nötig, dass an eine Übertragung dieser Dosen auf menschliche Massen nicht zu denken ist [siehe unten]. Man hat also versucht, die Versuchs-Objecte gewissermassen specifisch zu sensibilisieren durch vorherige Erzeugung eines künstlichen Fiebers.

Dazu giebt es bekanntlich 2 Wege : die operative Reizung des Wärme-Centrums durch den Wärmestich und die Infection.

Die erste Art, der Wärmestich, liefert ein Fieber von grosser Regelmässigkeit und war und ist die gegebene Methode für die pharmakologische Analyse der Wirkung der Antipyretica (1). Sie ist indessen nach der Intensität nicht a priori beherrschbar und deshalb zur Prüfung technischer Fieber-Mittel weniger zu gebrauchen als die Infection, unter deren Wirkung denn auch tatsächlich die meisten Prüfungen ausgeführt werden.

In traditioneller Weise bediente man sich als fieber-erregenden Agens des Heu-Infuses, in der Absicht, mit nicht-pathogenen Keimen ein harmloses Fieber zu bewirken. Das Heu-Infus ist indessen ein uncontrollierbares mixtum compositum von Bacterien etc., keineswegs immer wirksam, und wenn wirksam, nicht immer gleichmässig. Auch ist der Einwand nicht ohne Weiteres zu widerlegen, dass diese Heu-Pilze in der menschlichen Pathologie keine Rolle spielen und ein Fieber-Mittel besser mit Fieber durch Bacterien des Menschen erprobt werde. Es muss also zur Reincultur und zum nicht-pathogenen Bacterium des Menschen gegriffen werden, und das nächstliegende Material ist Bacterium coli, über dessen fieber-erregende Eigenschaften bereits eingehende Untersuchungen von KREHL (2) vorliegen. Mit ihm wurden auf Veranlassung von Prof. W. STRAUB alle meine Untersuchungen angestellt.

Die pyrogenen Eigenschaften des Bacterium coli müssen einer pyrogenen Substanz zukommen, die nach KREHL ein Endotoxin der Bacterien ist und mit deren Studium sich besonders CENTANNI (3) beschäftigt hat. CENTANNI hat sich in sehr umfangreichem Mass-Stabe mit den pyrogenen Qualitäten einer sehr grossen Anzahl von Bacterien beschäftigt. Er resumiert seine Untersuchungs-Resultate ohne Angabe von Versuchs-Protokollen in der citierten deutschen Abhandlung; da ich auch in der italienischen Litteratur keine ausführliche Mitteilung des Autors finden konnte, musste ich das für meine eigene Untersuchung nötige Tatsachen-Material mir selbst beischaffen; dabei ergab sich in all den Punkten, die für meine Frage-Stellung interessierten, eine völlige Bestätigung der

---

(1) GOTTLIEB : *Untersuchungen über die Wirkungsweise temperaturherabsetzender Arzneimittel,* Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie. Band XXVI, S. 419.

(2) KREHL : *Über die Erzeugung von Fieber bei Tieren,* Arch. f. exp. Path. und Pharm., B. XXXV, S. 222.

(3) CENTANNI : *Untersuchungen über das Infections-Fieber,* Deutsche Med Wochenschrift, 1894, N° 7 und 8.

Centannischen Thesen. Ich berichte über diesen Teil meiner Untersuchung zuerst (1).

Meine Versuchs-Tiere waren mit Rücksicht auf die Zwecke der Technik, die viel leicht beschaffbares Material braucht, ausschliesslich Kaninchen. Nachdem einige Versuche der automatischen Dauer-Registrierung der Rectum-Temperatur mit Hilfe eines Luft-Thermometers fehlschlugen, ermittelte ich discontinuierliche Temperatur-Curven durch halb- oder ganz-stündliches Messen der Tiere, die in der Zwischen-Zeit ruhig in ihren Käfigen sassen.

Bekanntlich sind Kaninchen schlechte Temperatur-Regulierer; auf dem Operations-Brett aufgebunden, erfrieren sie sogar, und auch unter anscheinend ganz constanten Aussenbedingungen wechselt im Laufe des Tages die Temperatur, wie auch gleich grosse Individuen desselben Stalles fast immer verschiedene Eigen-Temperaturen haben.

Wenn auch diese Variablen für den Gang meiner Untersuchung nur untergeordnete Bedeutung haben [denn für diese kommen nur Differenzen in betracht] so musste ich mich doch über die Grössen-Ordnung dieser Schwankungen orientieren. Als die Extreme sehr vieler Messungen fand ich 38,5° nach unten und 40,2° nach oben; im Allgemeinen kann, wie auch GOTTLIEB fand, die « Normal »-Temperatur mit rund 39° festgelegt werden. Die Breite der Tages-Schwankung eines Tieres ist höchstens 1,0°, und niemals tritt diese Schwankung an gesunden Tieren kritisch ein; vielmehr liegen die Wende-Punkte dieser Schwankungen doch immerhin mehrere Stunden weit auseinander. Für meine Zwecke folgt daraus, dass Temperatur-Änderungen auf einen vorausgegangenen Eingriff bezogen werden dürfen, wenn sie innerhalb einer Stunde mindestens 0,5° betragen. Diese Regel hat sich im Lauf meiner Untersuchung als zuverlässig herausgestellt.

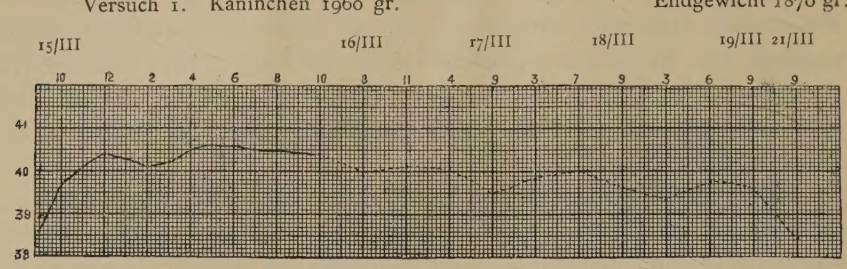
. . . . . .

Das verwendete Bacterium coli wurde in freundlicher Weise von Herrn Priv.-Docent Dr SÜPFLE aus menschlichen Faeces reingezüchtet; ich verwendete meist 2-6 ccm einer lange Zeit gewachsenen Bouillon-Cultur dieser Bacterien, u. a. eine, die seit 1 ½ Jahren wuchs; sie hatten reichlich Bodensatz gebildet und dürften sich im Endstadium des Wachstums in ihrem jeweiligen Gefässe befunden haben. Das Versuchs-Quantum wurde vor der Injection in das Tier sterilisiert und auf Sterilität durch Kultur-Verfahren geprüft.

Nach der einmaligen Injection einer solchen Bouillon [oder auch

(1) Diese Untersuchungen sind zum grossen Teil schon deshalb ganz unabhängig von Centanni, weil mir seine vor 16 Jahren publicierte Abhandlung erst nach Abschluss der Ausarbeitung meiner Methodik bekannt wurde.

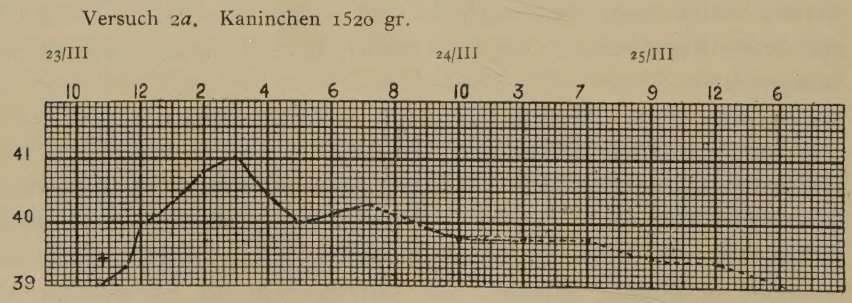
einer « eiweiss-freien » Cultur; s. u.] entwickelt sich ein Fieber von 1-2° Temperatur-Steigerung, das im Allgemeinen erst im Laufe mehrerer Tage wieder zur Normal-Temperatur absinkt, was auch schon von



+ 2,0 Eiw.-freie Coli-Cultur subcut. [sterilis.]. — Innerhalb der ausgezogenen Linien bedeuten die Abscissen gleiche Zeiten, bei den punktierten sind die Zeitabschnitte willkürlich eingetragen. Die dicken Punkte bedeuten die einzelnen Messungen.

Centanni beobachtet wurde. Das Fieber ist am ersten Tage annähernd von Continua-Typus; an den folgenden Tagen kommen Remissionen und neuerliche Anstiege, die ich als Folgen der unregelmässigen Auslaugung der toten Bacterien-Leiber anzusehen geneigt bin [cf. Curve Versuch I]. Ein derartiges Fieber ist am 1. Tage regelmässig genug, um als Unterlage für die Wirksamkeits-Prüfung eines Fieber-Mittels zu dienen.

Verwendet man statt der ganzen Cultur das sterile Filtrat, gewonnen durch Filtration durch ein Pukal-Filter, so erreicht man Fieber von der Art der in den Curven Versuch *2a-c* mitgeteilten, die also im Laufe



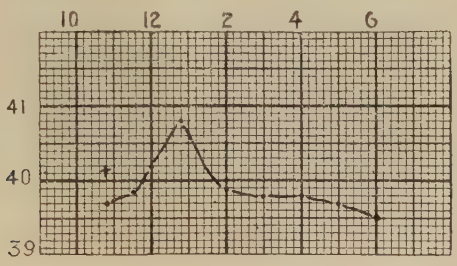
+ 2,0 Colibouillon-Filtrat subcut.

mehrerer Stunden schon verschwunden sind, deren Dauer, aber nicht deren Höhe, der verwendeten Gift-Dosis proportional zu sein scheint [cf. Curve Versuch *2b* mit *c*]. Dementsprechend machen auch extrem grosse Dosen kein die Temperatur von 41,5° übersteigendes Fieber. Als weitere Folgen extrem grosser Dosen beobachtete ich fast stets die auch von Anderen bemerkte, nicht selten zum Tode des Versuchs-Tieres

führende Abmagerung. Eine ziemlich häufige Erscheinung bei hohen Dosen ist auch ein dem eigentlichen Fieber-Anstieg vorhergehender Collaps mit Temperatur-Senkung von etwa 0,5° [auch von Centanni beobachtet].

Da das Bacterium coli offenbar nur wenig Exotoxin bildet, wie auch schon KREHL hervorhebt, eignet sich das sterile Filtrat offenbar nicht für

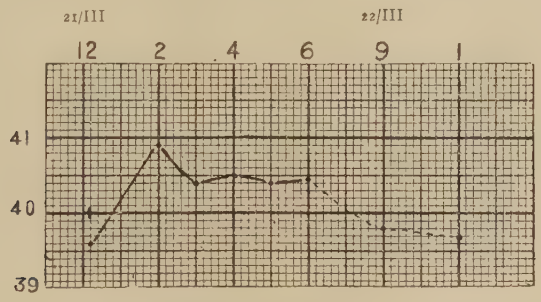
Versuch 2*b*. Kaninchen 2030 gr.



+ 2,0 Colibouillon-Filtrat subcut.

meine Zwecke; ich ging deshalb dazu über den Rückstand von der Filtration zu verwenden.

Versuch 2*c*. Kaninchen 2000 gr.



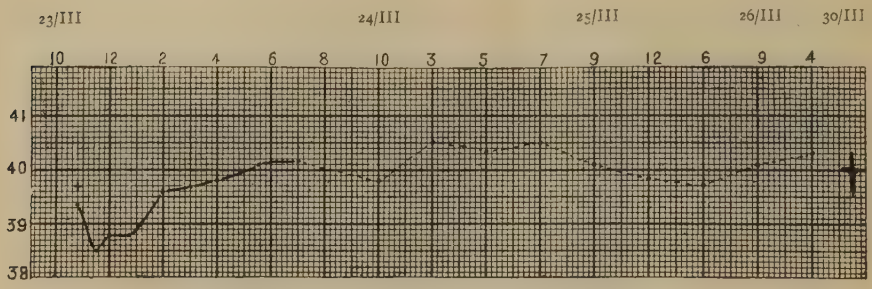
+ 6,0 Colibouillon-Filtrat subcut.

Der Rückstand wurde von der Filter-Kerze abgekratzt, in Glycerin suspendiert, darin im Achat-Mörser möglichst fein verrieben und endlich im Ofen auf ca. 100° eine Viertelstunde lang erwärmt. Eine so bereitete Gift-Lösung ist ausserordentlich wirksam und dabei haltbar. 0,5 ccm meiner Emulsion machten die in der Curve Versuch 3 mitgeteilten Erscheinungen, wobei besonders der anfängliche Collaps von vergleichsweise langer Dauer zu bemerken ist. Das Fieber hat durchaus den Continua-Character und dauerte bis zu dem nach 8 Tagen erfolgten Tode des Tieres an.

Die Section ergab hochgradige Hyperaemie des Darmes mit eiweiss-

reichem Exsudat im Dünndarm. Dieselben Erscheinungen kann man bei intravenöser Injection von nur 0,25 ccm. meiner Aufschwemmung schon in der Zeit von einer halben Stunde bekommen. Es treten dann die

Versuch 3. Kaninchen 1100 gr.

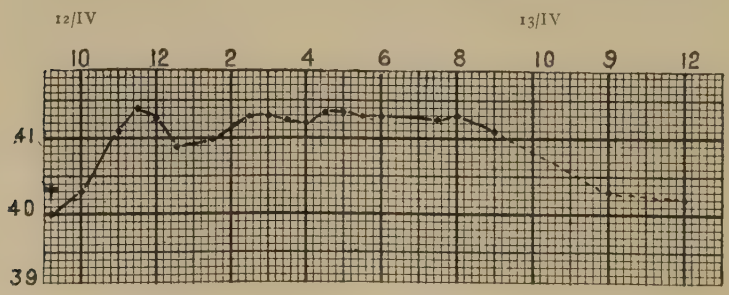


+ 0,5 Bacterien-Rückstand des Colibouillon-Filtrates in Glycerin subcut.

heftigsten Durchfälle auf, und nach ganz kurzer Zeit geht das Tier nach einigen vorhergegangenen Krämpfen im tiefsten Collaps zugrunde. Auch hier ist der Dünndarm mit serösem Inhalt gefüllt. Aehnliches wurde von Centanni beobachtet.

Nach dem Resultat des Versuchs 3 braucht das nach der obenstehenden Angabe bereitete Gift nur entsprechend dosiert zu werden, um ein continierliches, nicht tötliches Fieber, mit dem experimentiert werden kann, zu ermöglichen. Ich habe in der Folge für das Kilo Tier 0,2 gr. meiner Bacterienleiber-Glycerinaufschwemmung, verteilt in 2 ccm. des Kultur-Filtrates nach der Berkefeld-Filtration, zur subcutanen Injection verwendet [cf. die Curven Versuch 5 und 6, 14*b* und 15*b* (1)]. Dabei

Versuch 5. Kaninchen 2020 gr.

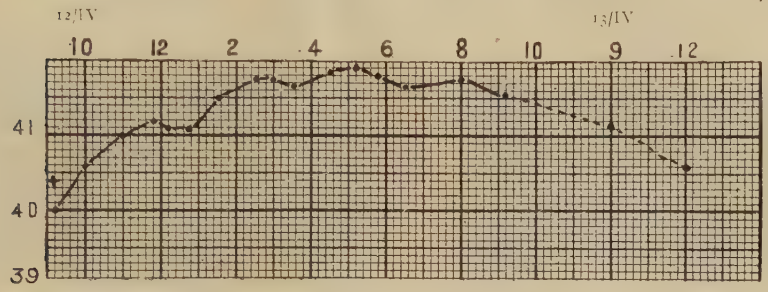


+ 4.0 Colibouillon-Filtrat + 0,4 Bact.-Rückstand subcut.

(1) Ein Teil der reproducierten Curven stammt von der Zeit nach vorhergehenden Versuchen, die noch mit der unzerlegten Cultur angestellt sind; diese erzeugt [s. o.] ein für mehr theoretische Fragen verwertbares Fieber, das sich nur in der Höhe und Dauer weniger beherrschen lässt.

ist zu beachten, dass im *Anfang* öfters ein besonders steiler Anstieg mit sofort folgendem ebensolchen Abfall vorkommt, der sichtlich der raschen

Versuch 6. Kaninchen 1830 gr.



+ 4,0 Colibouillon-Filtrat + 0,4 Bact.-Rückstand subcut.

Resorption einer grösseren Menge des bereits gelösten Giftes zuzuschreiben ist. Dieses erste Stadium ist daher für die Prüfung van Fieber-Mitteln zu unregelmässig, und es empfiehlt sich, eine solche erst nach Ablauf der ersten 4-6 Stunden vorzunehmen, d. h. [practisch ausgedrückt] nach Injection des Fieber-Giftes zwischen 8 und 10 Uhr vormittags das Antipyreticum erst in den Nachmittags-Stunden von 2 Uhr ab zu geben.

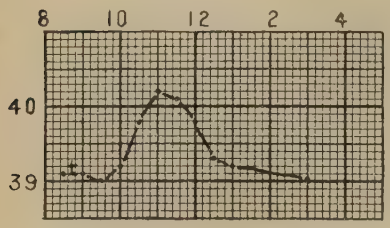
Ich habe einige orientierende Versuche zur Isolierung des Coli-Giftes angestellt, die bis zu einem gewissen Grade von Erfolg waren. Centanni hat zur Isolierung des nach seinen Schluss-Folgerungen allen Bacterien gemeinsamen « Pyrotoxins » wohl in der Meinung, ein Bacterien-Toxin labiler Natur vor sich zu haben, sehr schonende und deshalb sehr umständliche Methoden verwendet. Nach älteren, nicht veröffentlichen Versuchen von Prof. Straub ist indessen für die Abtrennung des Fieber-Giftes aus der Cultur-Lösung keine besonders schonende Procedur erforderlich.

Das Fieber-Gift wird durch Blei-Essig nicht gefällt; man kann es also von den übrigen Bestandteilen der Culturflüssigkeit mit Blei-Essig trennen; man macht die Fällung zweckmässig möglichst quantitativ, entfernt den geringen Blei-Überschuss mit Natrium-Sulfat und stumpft die essigsaure Lösung mit Alkali *etwas* ab. Es resultiert so eine Lösung, die biuretfrei ist, schwach sauer reagiert und ohne Weiteres den Versuchs-Tieren subcutan injiciert werden kann. Sie erträgt Kochhitze kurze Zeit ohne Schaden und hält sich in verschlossener Flasche jedenfalls Monate lang. Das Einzige, was zu vermeiden ist, ist alkalische Reaction, bei der sie bald ihre Wirksamkeit verliert. In einigen Fällen hat nach dieser Behandlung die schliessliche Gift-Lösung sich gleich wirksam gezeigt wie das Ausgangs-Material [Cf. die Curven Versuch *7a* und *b*, die mit derartig

gereinigter Cultur-Flüssigkeit im Jahre 1908 von Prof. Straub gewonnen sind].

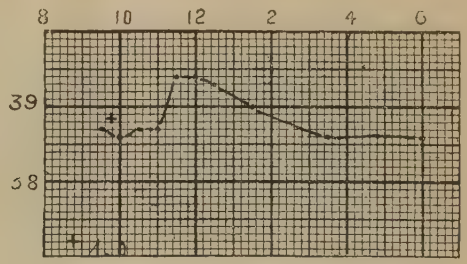
Da die gewöhnliche Nähr-Bouillon in grösseren Dosen bei subcutaner

Versuch 7*a*. Kaninchen 1510 gr.



1,0 des *Filtrates* nach Fällung einer Bouillon-Cultur mit Blei-Essig.

Versuch 7*b*. Kaninchen 1600 gr.



1,0 wie 7*a*.

Injection « Albumosen-Fieber » verursacht, habe ich in gleicher Weise Material verarbeitet, das auf eiweissfreiem Nährboden wuchs, d. h. den Nährboden nach Voges und C. Fränkel [hygien. Rundschau 1894, N° 17], in dem als Stickstoff-Quellen Asparagin und Ammonium lacticum enthalten sind. Auch hier wurde die pyrogene Substanz produciert und zwar in anscheinend derselben Menge wie in der Bouillon.

Da die Substanz der Bleiessig-Fällung entgeht, ist es nicht sehr wahrscheinlich, dass sie selbst eine Albumose sein kann; indessen kann ich wegen der Kleinheit meines Beobachtungs-Materials zur Frage nach der chemischen Natur des Giftes nicht Stellung nehmen.

2. TEIL.

Die Prüfung der Fieber-Mittel.

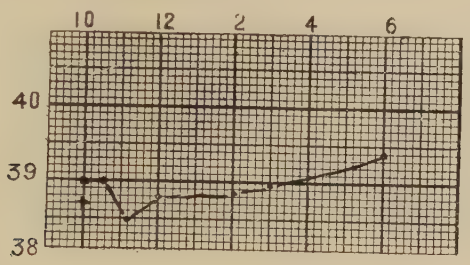
Nachdem die Methode der Erzeugung des künstlichen Fiebers feststand, wurden als Paradigmata für die antipyretische Beeinflussung hauptsächlich Antipyrin und Pyramidon [= Dimethylamido-Antipyrin] gewählt, denen dann noch einige andere als Nebenversuche angeschlossen wurden. Beide Mittel wurden sowohl innerlich als subcutan gegeben. Die innere Application geschah zunächst in Form von Pillen, welche die Tiere aber schwer nehmen und welche die Resorption oft bis zur Aufhebung der Wirkung verzögerten, oder in gelöstem Zustand mit der Magen-Sonde. Am zweckmässigsten erwies sich schliesslich die Application in Substanz, indem man dem festgehaltenen Tier mit Hilfe einer Kiefer-Klemme und eines klein-kalibrigen Glas-Röhrchens das Pulver

möglichst tief in den Rachen schüttet und dann durch Zuhalten der Nase das Tier zum Schlucken zwingt. Es zeigte sich, dass dabei meist nur geringe Mengen verloren gehen. Zu quantitativen Versuchen mit Minimal-Dosen eignet sich diese Methode allerdings weniger. Dazu bleibt immer die Subcutan-Injection die sicherste, bei der wegen der rascheren Resorption geringere Dosen gewählt werden mussten.

Wirkung typischer Antipyretica auf nicht fiebernde Tiere.

Zunächst versuchte ich die Wirkung auf normale Tiere. Bei der innerlichen Anwendung setzte 1,0 gr. Antipyrin bei einem Kaninchen von 1960 gr. die Temperatur von 39,0 auf 38,5 innerhalb von 1 Stunde herab, während Pyramidon bei einem Tier von 1600 gr. in $\frac{3}{4}$ Stunden die

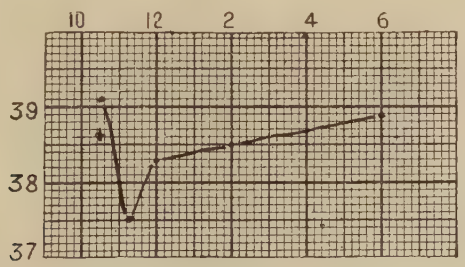
Versuch 8*a*. Kaninchen 1960 gr.



+ 1,0 Antip. innerlich.

3 fache Wirkung hatte. Im ersten Fall wurde die Anfangs-Temperatur 5 Stunden nach der Injection, 4 Stunden nach dem Temperatur-Minimum,

Versuch 8*b*. Kaninchen 1600 gr.



+ 1,0 Pyram. innerlich.

wieder erreicht, beim Pyramidon erst ca. 8 Stunden nach der Injection. Bei beiden stieg nachher die Temperatur um ca. 0,5° an, blieb jedoch innerhalb der Grenzen der Normal-Temperatur und wurde daher nicht weiter verfolgt.

Subcutan wählte ich die Dosierung zunächst so, dass auf 1 kg. Körpergewicht 0,25, 0,1 und 0,05 gr. Antipyrin und 0,05 und 0,025 gr. Pyramidon kamen. Die Versuche ergaben folgende Resultate :

I. Antipyrin 0,25 auf 1 kg. Tier subcutan.

Versuch 9*a*. Kan. von 2050 gr. erhält 0,5 Antipyrin.
Temp. sinkt um 0,6° [39,8—39,2] in 1 $\frac{3}{4}$ St., um dann allmählich wieder anzusteigen.

Versuch 9*b*. Kan. von 1790 gr. erhält 0,5 Antip.
Temp. sinkt um 0,4° [39,4—39,0] in 1 $\frac{1}{2}$ St.

II. Antipyrin 0,1 auf 1 kg. Tier subcutan.

Versuch 10*a*. Kan. von 1650 gr. erhält 0,2 Antipyrin.
Temp. sinkt um 0,4° [39,7—39,3] in $\frac{3}{4}$ St.

Versuch 10*b*. Kan. von 1780 gr. erhält 0,2 Antipyrin (1).
Temp. sinkt um 0,2° [39,9—39,7] in 2 St.

Versuch 10*c*. Kan. von 2190 gr. erhält 0,2 Antipyrin.
Temp. *steigt* um 0,1° [39,8—39,9] in 1 St. und fällt nach $\frac{1}{2}$ St. wieder auf den ursprünglichen Grad.

III. Antipyrin 0,05 auf 1 kg. Tier subcutan.

Versuch 11*a*. Kan. von 2070 gr. erhält 0,1 Antipyrin.
Temp. *steigt* von 39,9 auf 40,0°.

Versuch 11*b*. Kan. von 2030 gr. erhält 0,1 Antipyrin.
Temp. *steigt* von 39,5 auf 39,8°.

IV. Pyramidon 0,05 auf 1 kg. Tier subcutan.

Versuch 12*a*. Kan. von 1650 gr. erhält 0,1 Pyramidon.
Temp. sinkt um 0,95° [39,75—38,8°] in 1 St.

Versuch 12*b*. Kan. von 2050 gr. erhält 0,1 Pyramidon.
Temp. sinkt um 0,4° [40,2—39,8] in 1 St.

V. Pyramidon 0,025 auf 1 kg. Tier subcutan.

Versuch 13*a*. Kan. von 1790 gr. erhält 0,05 Pyramidon.
Temp. sinkt um 0,35° [39,7—39,35] in 1 St.

Versuch 13*b*. Kan. von 2070 gr. erhält 0,05 Pyramidon.
Temp. sinkt um 0,2° [40,2—40,0] in $\frac{3}{4}$ St.

Versuch 13*c*. Kan. von 1900 gr. [wiederholt gebraucht!] erhält 0,05 Pyramidon.
Temp. sinkt um 0,85° [39,55—38,7] in 1 St.

Die verwendeten Tiere waren alle ungebraucht bis auf das letzte. Die Ergebnisse dieser Versuche sind folgende :

Antipyrin wirkt am normalen Tier in der Dosis von 0,25 auf 1 kg. Tier, subcutan gegeben, noch sicher temperatur-herabsetzend, in der Dosis von 0,1 unsicher [Versuch 10*b* und *c* gegen *a*] oder ganz schwach [*b*], mit 0,5 garnicht, dagegen ganz minimal temperatur-erhöhend.

Pyramidon wirkt am normalen Tier in der Dosis von 0,05 auf 1 kg.

(1) Die Versuche wurden alle mindestens 2 mal angestellt, um Zufälligkeiten auszuschliessen.

Tier sicher und verhältnismässig stark, in der Dosis von 0,025 dagegen nur ganz schwach. Das Tier in Versuch 13*c* ist offenbar durch die wiederholten früheren Coli-Injectionen bereits für antipyretische Eingriffe empfindlicher geworden [s. u.].

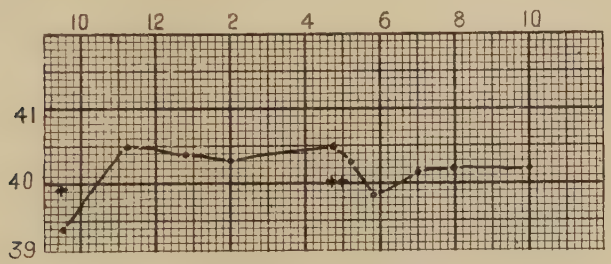
Wie gestalten sich nun diese Wirkungen am fiebernden Tier?

Ist dieses specifisch für Antipyretica sensibilisiert?

Versuch 14*a*. Kan. von 1790 gr.

9.00 a. m. 39,8° — erhält 4,0 Colibouillon-Filtrat subcutan
12.00 40,4°
2.30 40,6°
5.45 40,8° — 0,1 Antipyrin subcutan
6.45 40,0°

Versuch 14*b*. Kan. von 1480 gr.



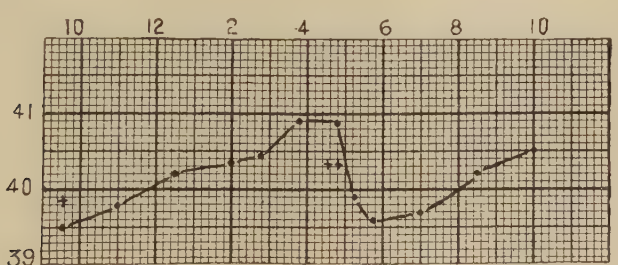
+ Colibouilon-Filtrat + 0,2 Bact.-Rückstand.
++ 0,1 Antipyrin subcut.

9.30 a. m. 39,4° — Coli-Injection.
11.15 40,5°
2.00 40,3°
4.45 40,5° — 0,1 Antipyrin subcutan.
5.45 39,85°

Versuch 15*a*. Kan. von 2190 gr.

9.15 a. m. 39,8° — erhält 4,9 Colibouillon-Filtrat subcutan.
10.45 41,2°
12.30 41,25°
6.00 41,0° — 0,05 Pyramidon subcutan.
7.00 39,0°

Versuch 15*b*. Kan. von 1550 gr.



+ 4,0 Colibouillon-Filtrat + 0,4 Bact.-Rückstand.
++ 0,05 Pyramidon subcut.

9.30 a. m.	39,5°	— Coli-Injection.
12.30	40,25°	
3.45	40,9°	
4.45	40,9°	— 0,05 Pyramidon subcutan.
5.45	39.6°	

Die Tiere zu Versuch 14*a* und 15*a* waren bisher zu Fieber-Versuchen nicht gebraucht, davon 14*a* dasselbe, das in normalem Zustande [in Versuch 9*b*] auf Antipyrin und in Versuch 13*a* auf Pyramidon nur minimal reagiert hatte; ebenso hatte Tier 15*a* in Versuch 10*c* auf Antipyrin garnicht reagiert.

Die Tiere zu Versuch 14*b* und 15*b* waren vorher nur 1 mal, bzw. 2 mal zu Fieber-Versuchen verwendet worden im Abstand von mindestens einer Woche.

Es haben also Gaben von 0,05 Antipyrin und 0,025 Pyramidon [auf 1 kg. Tier berechnet], Gaben, die *am normalen Tier* entweder garnicht oder nur ganz unsicher wirkten [s. o.], *beim fiebernden Tier* eine *deutliche temperatur-herabsetzende Wirkung* in der eingangs gegebenen Definition, d. h. sie machen eine Senkung von mindestens 0,5° im Verlauf von 1 St. Das durch Coli-Injection fiebernde Kaninchen ist also für antipyretische Substanzen vom Typus des Antipyrins und Pyramidons, die nach Gottlieb (1) als Narcotica des Wärme-Centrums zu deuten sind, gegenüber dem normalen Tier in erhöhtem Maasse sensibilisiert, und *damit ist die Möglichkeit, mit Hilfe des Coli-Fiebers Antipyretica in kleinen Dosen auf ihre Wirksamkeit zu prüfen, erwiesen.*

Die bisherigen Versuche sind etwa auf der Höhe des Fiebers angestellt. Weiter interessiert aber natürlich auch die Wirkung der Antipyretica in frühen und späten Stadien des Fiebers sowie vor der Fieber-Intoxication, da diese keineswegs der Wirkung auf der Höhe gleich zu sein oder parallel zu gehen braucht. Da [s. o.] die ersten sowohl als die späten Stadien des Fiebers erheblich unregelmässiger verlaufen als die Höhe — die schon aus diesem Grunde das Optimum für die Fiebermittel-Prüfung darstellt —, habe ich in den übrigen Stadien keine quantitativen, sondern nur orientierende Versuche mit grösseren Gaben angestellt.

Das *Antipyrin* setzte in Versuch 8*a* bei innerer Anwendung am normalen Tier in der grossen Dosis von 1,0 die Temperatur nur um 0,5° [39,0—38,5] in 1 St. herab. Subcutan hatte es noch eine unzweifelhaft deutliche Wirkung in der Dosis von 0,5 [39,9—39,2 in 1 $\frac{5}{4}$ St.].

1) L. c.

VERSUCHE.

I. Innerlich.

Versuch 16*a*. Kan. von 2130 gr.

9.00 a. m. 39,7 — 2,0 sterilis. eiweiss-freie Coli-Cultur subcutan.
9.30 40,0 — 1,0 Antipyrin innerlich.
10.00 39,5
10.30 39,7
11.00 39,5
2.00 39,1
7.00 39,45

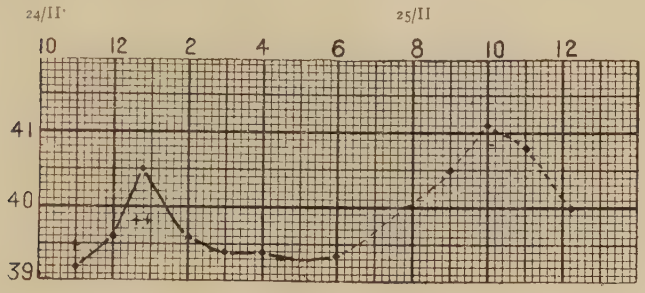
Am folgenden Tag Fieber bis 40,1.

Versuch 16*b*. Kan. von 2090 gr.

9.00 a. m. 39,5 — 2,00 sterilis. eiw.-freie Coli-Cultur subcutan.
10.00 39,4
11.00 40,3
12.00 40,3 — 1,0 Antipyrin innerlich.
1.00 39,75
3.00 39,55
7.00 39,7

Am folgenden Tag Fieber bis 40,3.

Versuch 17*a*. Kan. von 1980 gr.



\+ 4,0 sterilis. eiw.-freie Coli-Cultur subcut.
\+\+ 0,5 Antip. innerlich.

11.00 a. m. 39,2 — Coli-Injection.
12.45 40,5 — 0,5 Antipyrin innerlich.
2.00 39,6
5.00 39,3

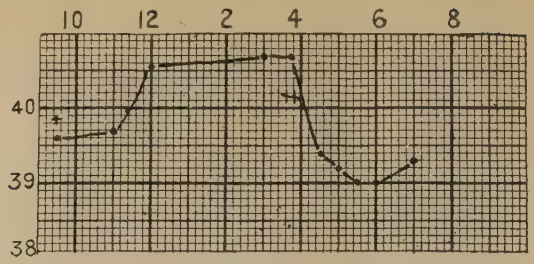
Am andern Tag Fieber bis 41,1.

Versuch 17*b*. Kan von 2070 gr

11.00 a. m. 39,3 — 4.0 sterilis. eiw.-freie Coli-Cultur subcutan.
12.00 39,5
2.00 40,65
3.00 40,5 — 1,0 Antipyrin innerlich.
5.00 39,2

Am andern Tag fieberfrei.

Versuch 18*a*. Kan von 2000 gr.



\+ 2,0 sterilis. eiw.-freie Coli-Cultur subcut.
++ 0,5 Antip. innerlich.

9.30 a. m.	39,55	— Coli-Injection.
12.00	40,55	
4.00	40,7	— 0,5 Antipyrin innerlich.
5.00	39,2	
6.00	39,0	
7.00	39,3	

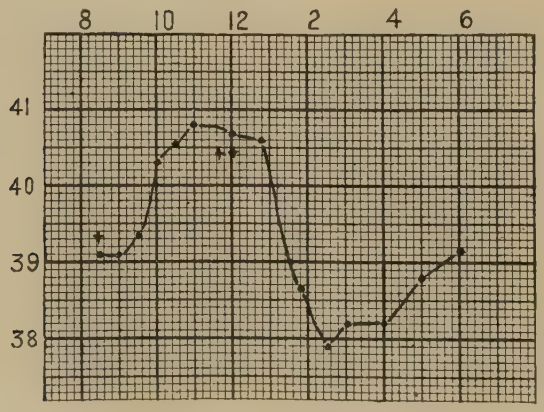
Versuch 18*b*. Kan. von 2070 gr.

10.30 a. m.	38.5°	— 4,0 sterilis. Coli-Bouillon subcutan.
12.45	40.0	
3.30	39,65	— 0,5 Antipyrin innerlich.
5.00	39,1	
6.00	38,7	
7.00	39,3	

Am folgenden Tag Fieber bis 40,7.

II. Subcutan.

Versuch 19*a*. Kan. von 1940 gr.



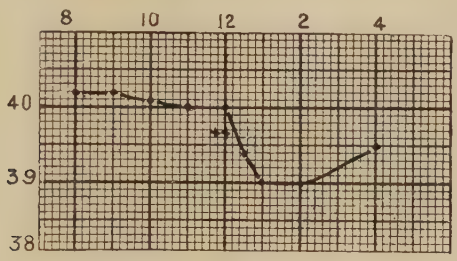
\+ 4.0 ster.lis. eiw.-freie Coli-Cultur subcut.
++ 0,5 Antip. subcut in Alkohol.

8.30 a. m. 39,1 — Coli-Injection.
11.00 40,8
12.00 40,7 — 0,5 Antipyrin subcutan in *Alkohol.*
12.45 40,6
2.30 37,9
6.00 39,15

Versuch 19*b*. Kan. von 2110 gr.
1.00 p. m. 39,7 — 2,0 sterilis eiw.-freie Coli-Cultur subcutan.
5.00 41,0 — 0,4 Antipyrin subcutan in *Aq. dest.*
7.00 39,4
8.00 39,7

Versuch 19*c*. Kan. von 2050 gr.
10.30 a. m. 38,9
10.45 2,0 sterilis. eiw.-freie Coli-Cultur subcutan.
12.30 40,0
2.30 41,0
4.00 39,6 — 1,0 Antipyrin subcutan in Alkohol.
5.00 39,3
7.00 38,2
Am folgenden Tag Fieber bis 40,0.

Versuch 20. Kan. von 1360 gr.



++ 0,3 Antip. subcutan in aq.

11.00 abends 39,6 — 1,5 sterilis. eiw.-freie Coli-Cultur subcutan.
Am folgenden Tag :
8.00 a. m. 40.2 [vergl. Curve].
12.00 40,0 — 0,3 Antipyrin subcutan in *Aq. dest.*
1.00 39,0
4.00 39,5

Die Ergebnisse dieser Versuche sind im Wesentlichen folgende :

I. ad 16*a*. Im Anfang des Fiebers, d. h. in dem Moment, wo dieses die Normal-Temperatur zu überschreiten beginnt, hat das Antipyrin noch etwa dieselbe Wirkung wie am normalen Tier, verhindert aber allerdings die Entwicklung des Fiebers während des ganzen Tages. Das Fieber kommt erst am folgenden Tag in geringem Grade zum Vorschein.

ad 16*b*. In einem etwas späteren Stadium, 1 $\frac{1}{2}$ St. nach Überschreitung der Normalgrenze, wirkt es etwa ebenso stark.

ad 17*a*. In einem Versuch, in dem der Temp.-Anstieg besonders rasch erfolgte und schon 1 $\frac{5}{4}$ St. nach der Injection 40,5° erreicht hatte, wirkte die *halbe* Dosis [0,5] bei einem Tier von annähernd gleichem Körper-Gew. schon doppelt so stark wie vorher 1,0 [40,5—39,6 = 0,9° in 1 $\frac{1}{4}$ St.].

ad 17*b*. In einem etwas späteren Stadium [4 St. nach der Injection] bewirkte 1,0 eine etwa gleich zu beurteilende Senkung von 40,5 auf 39,2 = 1,3° in 2 St.

ad 18*a*. Auf der Höhe des Fiebers [6 St. nach der Injection] zeigt sich die unzweifelhaft stärkste Wirkung, indem 0,5 bei einem Tier von 2000 gr. eine Senkung von 40,7 auf 39,0 = 1,7° in 1 $\frac{1}{2}$ bis 2 St. hervorrufen.

ad 18*b*. Bei einem nur geringen Fieber mit bald bemerkbarer absteigender Tendenz haben 0,5 nur eine verhältnismässig geringe Wirkung [39,65—38,7 = 0,95 in 2 $\frac{1}{2}$ St.].

II. ad 19*a*. Auf der Höhe des Fiebers bedingen 0,5 Antipyrin, *subcutan* gegeben, eine fast collaps-artige Temp.-Senkung von 40,7 auf 37,9 = 2,8° in 2 $\frac{1}{2}$ St., wobei aber wohl auch die Narcose durch den als Vehikel benutzten Alkohol eine befördernde Rolle spielt.

ad 19*b*. Auf der Höhe des Fiebers bedingen 0,4, in Aq. dest. gelöst, eine Senkung von 41,0 auf 39,4 = 1,6° in 2 St.

ad 19*c*. Bei deutlich absteigender Tendenz des Fiebers in einem späteren Stadium bewirkt 1,0 in Alkohol eine Senkung von 39,6—38,2 = 1,4° in 2 $\frac{1}{2}$—3 St. [wieder die collaps-artige Wirkung beim Alkohol!]

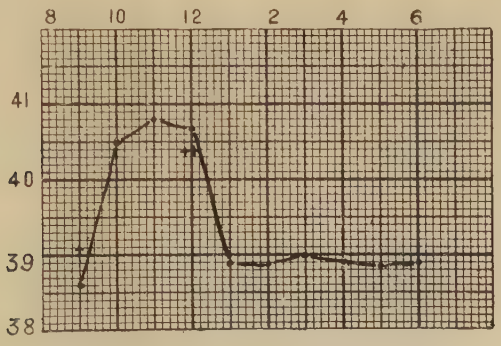
ad 20. In einem der letzten Stadien des Fiebers, d. h. am Mittag nach einer abends vorher erfolgten Coli-Injection, bewirken 0,3 in H_2O bei einem kleineren Tier von 1360 gr. eine im Vergleich zu Versuch 19*b* geringere Senkung von 1° in 1 St.

Im ganzen lässt sich also für das *Antipyrin* sagen, dass seine Wirkung weitaus am stärksten sowohl bei innerlicher wie bei subcutaner Darreichung *auf der Höhe des Fiebers* sich äussert, am geringsten ganz zu Beginn; eine Zwischenstellung nimmt das abfallende Fieber ein.

Ähnlich verhält es sich mit dem *Pyramidon*, wie die folgenden Versuche zeigen. Doch sind hier die Unterschiede nicht so auffallend wegen der an sich bedeutend kräftigeren Wirkung, die das Pyramidon im Vergleich zum Antipyrin in den entsprechenden Dosen hat. Hier ist sogar gerade die Wirkung im *späten* Stadium besonders stark [cf. Gottlieb, l. c. S. 438 für das Antipyrin].

I. Innerlich.

Versuch 21*a*. Kan. von 1550 gr.



+ Sterilis. eiw.-freie Coli-Cultur subc.
++ 0,75 Pyram. innerlich.

9.00	a. m.	38,6° — Coli-Injection.
10.00		40,5
12.00		40,7 — 0,75 Pyramidon innerlich.
1.00		38,9
3.00		39,0

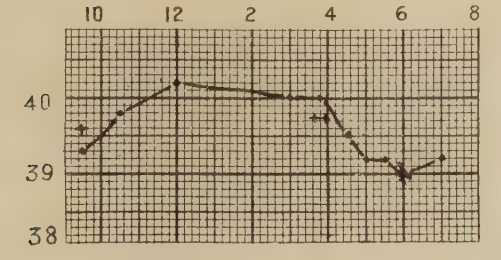
Also Senkung von 40,7 auf 38,9 = 1,8° in 1 St.

Versuch 21*b*. Kan. von 1600 gr.

9.00	a. m.	39,4 — 1,5 sterilis. eiw.-freie Coli-Cultur subcutan.
11.00		40,6
12.00		40.5 — 0,75 Pyramidon innerlich.
1.00		38,6
2.00		38,9

Also Senkung von 40,5 auf 38,6 = 1,9° in 1 St.

ersuch 21*c*. Kan. von 1600 gr.



+ 3,0 sterilis. etw.-freie Coli-Cultur subcut.
++ 0,25 Pyram. innerlich.

9.30	a. m.	39,3 — Coli-Injection.
12.00		40,2
3.45		40,0 — 0,25 Pyramidon innerlich.
5.00		39,2
6.00		39,0
7.00		39,25

Also Senkung von 40,0 auf 39,0 = 1° in 2 St.

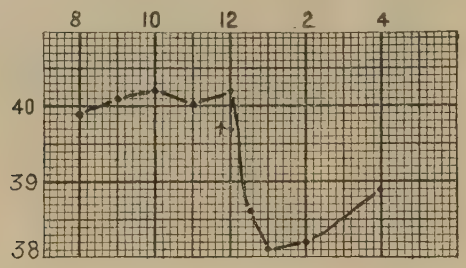
II. Subcutan.

Versuch 22*a*. Kan. von 2000 gr.

9.00 a. m. 39,15 — 2,0 sterilis. eiw.-freie Coli-Cultur subcutan
12.00 40,7
4.00 40,2 — 0,2 Pyramidon subcutan.
5.00 38,5
7.00 39,0

Also Senkung von 40,2 auf 38,5 = 1.7° in 1 St.

Versuch 22*b*. Kan. von 1510 gr.



++ 0,3 Pyram.. subcutan.

11.00 abends 39,4. Inj. von 1,5 steril. eiw.-freier Coli-Cultur subc.

Am folgenden Tag :

8.00 a. m. 39,9
10.00 40,2
12.00 40,2 — 0,3 Pyramidon subcutan.
1.00 38,1
4.00 38,9

Also Senkung von 40,2 auf 38,1 = 1,9° in 1 St.

Endlich schloss ich noch je einen Versuch mit einem Salicyl-Präparat und mit Chinin an. Dabei bewirkten 0,25 *Aspirin* innerlich bei einem Tier von 1930 gr. im absteigenden Teil der Curve eine Senkung von 40,3 auf 39,6 = 0,7° innerhalb von ca. 1-1 ½ St., eine Wirkung, die nicht stärker war als am nicht fiebernden Tier bei entsprechender Dosis; 0,1 *Chinin* innerlich erzeugte eine Senkung von 40,3 auf 39,5, die entgegen den übrigen Versuchen erst 1 St. nach der Application begann und dann innerhalb von 1 ½ St. erfolgte.

Um zu ermitteln, ob die angewandten Antipyretica etwa eine direct zerstörende Wirkung auf das Fiebergift selbst ausübten, versetzte ich gleiche Dosen des Cultur-Filtrates mit je 0,1 Antipyrin und Salicylsäure und 0,05 Chinin [also in an sich nicht antipyretischen Gaben], liess die Lösungen 24 St. stehen und injicierte sie am folgenden Tage. *Bei allen dreien* nahm das Fieber seinen gewöhnlichen Verlauf, ohne dass vorher die temperatur-herabsetzende Wirkung der Antipyretica zur Geltung gekommen wäre.

Injiciert man dagegen eine wirksame Dosis von Antipyrin $\frac{1}{2}$-1 St. vor der Coli-Injection, so setzt die Fieber-Curve unmittelbar am Ende der Senkungs-Curve des Antipyrins ein, *beschleunigt aber das Wiederansteigen vom tiefsten Punkt zur Höhe* im etwa umgekehrten Maasse, wie das Fieber-Mittel auf der Fieber-Höhe eine steile Senkung bewirkt.

Versuch 23. Kan. von 2000 gr.

11.15 a. m.	39,9°	— 0,5 Antipyrin subcutan.
11.45	39,1	— 4,0 Bouillon-Filtrat subcutan.
12.15	38,7	
12.45	40,35	
2.00	40,35	

Als geeignetstes Fieber-Stadium empfiehlt sich also für die Prüfung von antipyretischen Mitteln mit dem Coli-Fieber zweifellos die *Fieber-Höhe,* und zwar können als *Vergleichs-Werte* gebraucht werden : bei *subcutaner* Application die Wirkung von 0,05-0,1 Antipyrin auf 1 kg. Tier = etwas über 0,5° innerhalb von 1 St. und die Wirkung von 0,025 Pyramidon auf 1 kg. Tier = etwas über 1° innerhalb von 1 St.

Bei *innerlicher* Darreichung erhöhen sich die Gaben auf 0,4 Antipyrin auf 1 kg. Tier mit einer Wirkung von ca. 1,0-1,5° innerhalb von 1 St. und von der gleichen Dosis Pyramidon mit einer Wirkung von ca. 1,5-2° innerhalb von 1 St.

Auf Grund dieser Vergleichs-Werte prüfte ich 3 von einer Fabrik dargestellte Praeparate, die in Gaben von 0,4 auf 1 kg. Tier auf der Höhe des Fiebers innerlich in Substanz gegeben wurden. Trotz seiner weitaus besten Löslichkeit war das erste völlig unwirksam; das zweite setzte in 1 St. die Temp. von 40,8 auf 39,6 [= 1,2°] herab, das dritte von 40,4 auf 39,5 = 0,9°. Die beiden letzten wirkten also etwa ebenso stark wie Antipyrin.

Résumé.

Zur Prüfung des practischen Wertes neu dargestellter Fieber-Mittel eignet sich also besonders das Coli-Intoxications-Fieber durch die genannten Vorzüge, die noch einmal kurz zusammengefasst werden sollen : Das Bacterium coli ist an sich nicht pathogen, produciert also kein specifisches Gift und ruft daher wenigstens in den für den vorliegenden Zweck nötigen kleinen Gaben ohne störende Nebenwirkungen ein Fieber von genügender Regelmässigkeit hervor; einigermassen kräftige Versuchs-Tiere halten ohne dauernde Schädigung mehrfache Injectionen aus, wenn diese nicht in zu kurzen Zeit-Abständen vorgenommen werden. Die Tiere sind auf der Höhe des Fiebers für temperatur-herabsetzende Arznei-Mittel empfindlicher als normale Tiere; sie zeigen also mit Sicherheit und mit genügender Exactheit den practischen Wirkungs-Grad solcher Mittel an.

Zusammenfassung der Technik.

Zur Vorbereitung des Injections-Materials filtrirt man eine mindestens 3-4 Wochen in einem auf 30-37° [nicht höher!] eingestellten Thermostaten gewachsene Coli-Bouillon-Cultur durch ein Ton-Filter. Der Rückstand wird abgeschabt, in der zu feiner Verteilung eben nötigen Glycerin-Menge gut verrieben und ¼ St. bei ca. 100° erhitzt (1).

Kaninchen unter 1500 gr. erhalten 0,2 ccm. des so präparierten Bacterien-Rückstandes in 2,0 ccm. des Filtrates, solche über 1500 gr. die doppelte Menge subcutan injiciert [zur Feststellung der später erreichten Fieberhöhe empfiehlt sich eine einmalige Temperatur-Messung vor der Injection].

Frühestens 4 Stunden nach der Injection wird durch eine 2-malige Temperatur-Messung im Abstand von ½-1 Stunde die Höhe des Fiebers festgestellt und dann das zu prüfende « Antipyreticum » gegeben.

Handelt es sich um *die Feststellung der Wirksamkeit an sich,* so giebt man pro kg. Tier 0.4 gr. der Substanz *innerlich* als Pulver in der S. 8 angegebenen Weise. Zur Constatierung einer sicheren Wirkung ist eine Temperatur-Senkung von mindestens 0,5° nach einer bis längstens zwei St. [je nach der Resorption, d. h. Löslichkeit] erforderlich.

Zur Feststellung wirksamer Minimal-Gaben eignet sich besser die *Subcutan*-Application, wobei pro kg. Tier 0,025-0,1 gegeben werden und eine Wirkung von mindestens 0,5° eine Stunde nach der Injection eingetreten sein muss.

Auf die *voraussichtliche Wirkung beim fiebernden Menschen* darf nur aus dem Erfolg der *innerlichen* Darreichung geschlossen werden.

Der *Vergleichs-Wert* mit der bereits bekannten Wirksamkeit des Antipyrins oder Pyramidons ergiebt sich je nach der Dosis aus der Zusammenfassung oben S. 16.

(1) Zum Zweck der Sterilisierung und der Aufschliessung der Bacterien-Leiber, welche die Haupt-Menge des Fieber-Giftes enthalten [vergl. oben, Teil 1].

Lebenslauf.

Ich, Martin Kiliani, bin am 20. März 1885 geboren in München als Sohn des damaligen Professors der Chemie an der Kgl. technischen Hochschule Dr Heinrich Kiliani und seiner Frau Madeleine geb. von Widmann. Von September 1895 ab besuchte ich das Kgl. Maximilians-Gymnasium in München; als mein Vater im April 1897 einer Berufung an die Universität Freiburg i. Br. Folge leistete, trat ich in die entsprechende Klasse der dortigen Grossh. Bertholds-Gymnasium über, wo ich 1904 die Reife-Prüfung bestand.

Während des Winters 1904/05 diente ich als Einj.-Freiwilliger im 5. bad. Infanterie-Reg. Nº 113. Meine 10 Studien-Semester brachte ich in Freiburg und München zu und bestand im März 1907 die ärztliche Vorprüfung und im December 1909 die ärztliche Prüfung, beide vor den Prüfungs-Commissionen der Universität Freiburg. Seit Anfang Januar bin ich am Freiburger pharmakologischen Institut unter Herrn Prof. Straub als Medicinalpracticant tätig gewesen.

Freiburg i. Br. im April 1910.